

**Control del picudo (*Cosmopolites sordidus*) en
el cultivo de plátano (*Musa paradisiaca*)
usando tres agentes biológicos,
Heterorhabditis bacteriophora, *Beauveria
bassiana* y *Metarhizium anisopliae***

**José Manfredo Ramírez Herrera
Horacio Torres Estrada**

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Control del picudo (*Cosmopolites sordidus*) en
el cultivo de plátano (*Musa paradisiaca*)
usando tres agentes biológicos,
Heterorhabditis bacteriophora, *Beauveria*
bassiana y *Metarhizium anisopliae***

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingenieros Agrónomos en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**José Manfredo Ramírez Herrera
Horacio Torres Estrada**

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2016

Control del picudo (*Cosmopolites sordidus*) en el cultivo de plátano (*Musa paradisiaca*) usando tres agentes biológicos, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*

**José Manfredo Ramírez Herrera
Horacio Torres Estrada**

Resumen. *Cosmopolites sordidus* es la principal plaga que ataca al cultivo del plátano provocando daños severos como enanismo, amarillamiento, destrucción del corno y limitando el desarrollo de las plantas. Como una alternativa al control de esta plaga actualmente se investigan diferentes especies que actúan como enemigos naturales. El estudio consistió en evaluar tres agentes biológicos *Heterorhabditis bacteriophora*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para determinar su efectividad en el control del picudo. Se colocaron trampas fabricadas de galones plásticos en cada una de las parcelas experimentales, utilizando la feromona Cosmolure® para atraer el insecto. Se evaluaron cinco tratamientos, cada uno con cuatro repeticiones. Se realizaron tres aplicaciones al suelo con un intervalo de tiempo de 15 días entre una aplicación y otra, utilizando bomba de mochila. La dosis usada de hongos fue de 240g/ha y de nematodos 200 millones/ha. Después de cinco días se realizó el conteo de insectos encontrados en cada trampa, se colectaron y se trasladaron al laboratorio de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano para medir el grado de infección en cada uno de los tratamientos evaluados. El agente biológico que mostró mejores resultados en el control poblacional del picudo del plátano fue *Beauveria bassiana*, en comparación al testigo ($P \leq 0.05$) redujo un 82% la población de *Cosmopolites sordidus*. También *Metarhizium anisopliae* y la combinación de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* presentaron buena efectividad, ambos con 70% en la reducción poblacional del insecto. El tratamiento *Heterorhabditis bacteriophora* redujo 60% de la población pero al macerar los insectos la infección fue de 8% debido a que parasita más en larvas que en adultos.

Palabras clave: Cámara húmeda, coleóptero, entomopatógeno, larvas, maceración.

Abstract. *Cosmopolites sordidus* is the main pest of plantain cultivation causing severe damage such as stunting, yellowing, destruction corm, limiting the development of plants. As an alternative to currently control this pest, species that act as natural enemies are investigated. The study was to evaluate three biological agents *Heterorhabditis bacteriophora*, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to determine its effectiveness in controlling the weevil. Plastic traps manufactured gallons in each of the experimental plots were placed using the Cosmolure® pheromone attractant, which serves as insect attraction. There were five treatments, each with four replications were evaluated. Three soil applications were performed with a time interval of 15 days between one application and another, using knapsack. The dose of fungal used was 240g/ha and 200 million nematodes/ha. After five days counting insects found in each trap was performed, they were collected and transferred to the laboratory of Biological Control of the EAP Zamorano to measure the degree of infection of each of the treatments evaluated. The biological agent showed better results in population control banana weevil was *Beauveria bassiana* compared to the control ($P \leq 0.05$) reduced by 82% the population of

Cosmopolites sordidus. *Metarhizium anisopliae* and also the combination of *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* showed good effectiveness, both with 70% reduction in insect population. *Heterorhabditis bacteriophora* treatment reduced 60% of the population but to marinate insect's infection was 8% because larvae parasitize more than adults.

Keywords: Coleoptera, entomopathogenic, larvae, maceration, moist chamber.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	v
Índice de cuadros y figuras.....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4. CONCLUSIONES	10
5. RECOMENDACIONES	11
6. LITERATURA CITADA.....	12

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Población de <i>Cosmopolites sordidus</i> recolectados en las trampas ubicadas en cada tratamiento, antes y después de cada aplicación.....	6
2. Control poblacional de <i>Cosmopolites sordidus</i> después de las aplicaciones, expresado en porcentajes	7
3. Parasitismo causado por los agentes biológicos a <i>Cosmopolites sordidus</i> después de cada aplicación, expresado en porcentaje.....	8

Figuras	Página
1. Recolección de <i>Cosmopolites sordidus</i> en campo	4
2. Insectos colocados en cámara húmeda.....	4
3. Insecto parasitado por <i>Beauveria bassiana</i>	4
4. Control poblacional de <i>Cosmopolites sordidus</i> después de las aplicaciones, expresada en porcentajes.....	7

1. INTRODUCCIÓN

El plátano (*Musa paradisiaca*) es un cultivo con mucho valor económico en la mayoría de las regiones latinoamericanas (Carvajal 2009). Altamente susceptible al ataque de diversas plagas y enfermedades en la mayor parte de todo el ciclo productivo. El picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) es un insecto catalogado como la plaga principal que ataca las musáceas, se caracteriza por ser de metamorfosis completa posee cuatro etapas, huevo, larva, pupa y adulto. El ataque de este insecto interfiere en muchas actividades de la planta, impide el desarrollo radicular, limita la absorción de nutrientes, reduce el vigor de las plantas, daña el cormo y otros tejidos vegetativos, retrasa la floración, provoca pudrición de la planta y volcamiento de la misma (Lara et al. 2005).

El picudo del plátano ataca con mayor severidad plantaciones viejas, débiles, estresadas y mal nutridas. Las plantas afectadas presentan reducción de crecimiento, amarillamiento en las hojas, pérdida de sistema radical, prolongación del ciclo de producción y disminución en el rendimiento (Amador et al. 2015). El control debe tener una excelente planificación, utilizando todo lo que esté al alcance para reducir y eliminar las altas poblaciones de esta plaga. En la mayoría de plantaciones el control se realiza por medios químicos generando diferentes problemas ambientales, incrementa el desarrollo de otras plagas, causan resistencia y disminuyen población de insectos benéficos, actualmente existen otras alternativas de control utilizando gentes biológicos. Pueden convertirse en herramientas de gran importancia en el desarrollo de manejo integrado para el control del picudo negro en el cultivo del plátano (Gold y Messiaen 2000).

Los agentes biológicos investigados para control de *C. sordidus* se caracterizan por tener modos de acción de corto plazo, dentro de la gama de estudio se encuentran hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*: este ha sido recuperado del cuerpo de muchos insectos del orden coleóptera, lepidóptera y hemíptera, siendo posible que ataque a todos los artrópodos, *Beauveria bassiana* produce una toxina de muy alto peso molecular, llamada Beauvericina, el hongo parasita al insecto en cuatro etapas, adhesión, germinación y penetración, multiplicación y esporulación. Invade el huésped a través de los tegumentos del insecto, la cutícula o vía bucal (Bermúdez 2006). El hongo *Beauveria bassiana* es un plaguicida sensible a los rayos del sol, debido a este factor se recomienda realizar las aplicaciones durante las horas frescas de la mañana o en las últimas horas de la tarde (Blandón 2007).

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* es considerado otras de las opciones de control para la plaga. Su modo de acción inicia con la espora que se adhiere a los tegumentos del insecto, desarrollando una germinación de hifas las cuales penetran al interior del cuerpo del insecto, para el proceso de penetración del hongo actúan dos

mecanismo que son físicos y químicos, el primero se refiere a la presión que ejerce sobre la estructura del insecto para penetrar, la cual rompe las áreas con mucha membrana y partes fibrosas de la cutícula. El mecanismo químico se enfoca en actividades enzimáticas, como las proteasas que degradan las proteínas, lipasas los lípidos y quitinasas la quitina contenida en los tegumentos del insecto, causando descomposición de tejido en el área de penetración, facilitando el ingreso del hongo al insecto. El hongo ya dentro del insecto inicia un proceso de ensanchamiento de hifas multiplicándose rápidamente provocando severos daños, logrando una potente colonización, matándolo posteriormente (Castillo 2006).

El nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* se caracteriza por tener cuatro estadios juveniles de los cuales el número tres es el infectivo, trae consigo una bacteria simbiótica. Presenta una gran versatilidad, pudiendo atacar larvas lepidópteras, coleópteros y otros insectos. Tiene un comportamiento de navegante en la búsqueda del insecto, por lo que está recomendada para el control diferentes plagas que se alimentan de raíces (Jacas 2005).

Los objetivos del estudio fueron: Evaluar la eficacia de los agentes biológicos, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de *Cosmopolites sordidus* en *Musa paradisiaca* y determinar el porcentaje de reducción en la densidad poblacional de *Cosmopolites sordidus* en cultivo de *Musa paradisiaca*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. El estudio se realizó en la parcela de plátano ubicada en zona 2, a cargo de la unidad de Frutales de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, a 800 msnm de altura; con una precipitación anual de 1100 mm y temperatura promedio de 24 °C. La fecha de inicio del ensayo fue en Junio, 2016 y finalizando en Agosto del mismo año.

Metodología en campo. El estudio consistió en evaluar la efectividad sobre el control del picudo (*Cosmopolites sordidus*) de tres agentes biológicos, en un periodo de seis semanas, realizando mediciones cada 15 días. Se colocó una trampa en cada parcela experimental, las trampas se fabricaron de galones plásticos, contenían agua con detergente más la feromona Cosmolure que servía como atrayente al insecto. Antes de cada aplicación, las trampas de cada parcela fueron retiradas para darles mantenimiento y se colocaban nuevamente después de las aplicaciones, este proceso se realizó tres veces con un intervalo de 15 días, respecto al cambio de feromonas se hizo cada mes. Se registró un conteo de insectos en el área a utilizar antes de realizar las aplicaciones con el objetivo de saber la densidad poblacional de *C. sordidus* en ese momento y luego se registraron conteos de picudos presentes en cada una de las trampas y alrededor de ellas cinco días después de cada aplicación.

Variables medidas. Las variables a medir fueron: control poblacional de *C. sordidus* expresado en porcentaje y parasitismo causado por los agentes biológicos a *C. sordidus* después de cada aplicación, expresado en porcentaje.

Dosis de producto utilizado. En cada tratamiento se usaron 7 g de producto, excepto en el tratamiento de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*, por ser una combinación de dos agentes biológicos, la dosis usada fue 3.5 g de *Beauveria bassiana* más 3.5 g de *Metarhizium anisopliae*.

En *Heterorhabditis bacteriophora* la dosis utilizada se basó en la recomendación del proveedor de 200 millones de juveniles infectivos/ha, se utilizó entonces seis millones de nematodos en las cuatro repeticiones del tratamiento. Las aplicaciones fueron realizadas con bomba de mochila de 16 litros.

Procedimiento para evaluar parasitismo de insectos en laboratorio. Para determinar el grado de parasitismo por los hongos, los picudos adultos recolectados de las trampas (figura 1) se trasladaron al laboratorio de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, y se colocados en una cámara húmeda (figura2) por diez días, posteriormente se observaron para determinar el grado de parasitismo que presentaban tomando en cuenta las características básicas que muestra el producto al

momento de ser efectivo como son la coloración de la esporulación, siendo de un color blanco con forma algodonosa para *Beauveria bassiana* (figura 3), y verde oscuro para *Metarhizium anisopliae*. Para evaluar el control de los nematodos, los insectos recolectados se maceraron para observarlos en el microscopio y determinar su grado de parasitismo.



Figura 1. Recolección de *Cosmopolites sordidus* en campo.



Figura 2. Insectos colocados en cámara húmeda.



Figura 3. Insecto parasitado por *Beauveria bassiana*.

Diseño experimental. El área utilizada fue de 1440 m² y se dividió en parcelas de 8×9 m, en bloques completamente al azar. Se evaluaron cinco tratamientos, dos hongos entomopatógenos por separados, una combinación de ellos, nematodos y un testigo, con cuatro repeticiones cada tratamiento. Los tratamientos fueron los siguientes:

- *Heterorhabditis bacteriophora*
- *Beauveria bassiana*
- *Metarhizium anisopliae*
- *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*
- Testigo, este consistió en trampas sin ninguna aplicación de tratamientos.

Análisis estadístico. Para la interpretación de los datos se realizó un ANOVA sobre los promedios de *Cosmopolites sordidus* adultos colectados por tratamiento y un ANOVA en las medias, respecto al parasitismo que presentaron los insectos en laboratorio con una separación de medias DUNCAN. Los datos estadísticos fueron analizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS 9.4[®])

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Muestreos enfocados en la reducción de la densidad poblacional de *Cosmopolites sordidus* de acuerdo a las aplicaciones de agentes biológicos. De acuerdo a las colectas de insectos a lo largo del ensayo, la densidad poblacional se redujo significativamente (Cuadro 1) en la mayoría de los tratamientos en comparación con el testigo.

Cuadro 1. Población de *Cosmopolites sordidus* recolectados en las trampas ubicadas en cada tratamiento, antes y después de cada aplicación.

Tratamiento	Población inicial Insectos/tratamiento	1era aplicación	2da aplicación	3era aplicación
<i>Beauveria bassiana</i>	11	8 b*	4 c	2 d
<i>Metarhizium anisopliae</i>	10	7 b	5 bc	3 c
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	10	7 b	6 b	5 b
<i>Beauveria bassiana</i> + <i>Metarhizium anisopliae</i>	10	7 b	5 bc	3 c
Testigo	10	10 a	12 a	14 a
Probabilidad	0.07	0.03	0.01	0.01

* Diferentes letras en la misma columna reflejan diferencias significativas ($P \leq 0.05$)

Las medias poblacionales al inicio del experimento no difieren entre sí ($P > 0.05$) debido a que en ese momento no se habían realizado ninguna de las aplicaciones, después de la primera aplicación aún no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos pero si se puede notar una leve reducción poblacional con relación al testigo ($P > 0.05$) después de la segunda aplicación existen diferencias altamente significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos, teniendo un mejor control en la disminución poblacional de *C. sordidus* el tratamiento de *Beauveria bassiana*, la combinación de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* y *Metarhizium anisopliae* por separado mostraron un control similar de igual manera mostraron diferencias respecto a *Beauveria bassiana* y al testigo. Después de la tercera aplicación todos los tratamientos difieren del testigo ($P < 0.05$) siendo mejor el control con *Beauveria bassiana* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Control poblacional de *Cosmopolites sordidus* después de las aplicaciones, expresado en porcentaje.

Tratamiento	%		
	1era aplicación	2da aplicación	3era aplicación
<i>Beauveria bassiana</i>	28 a [⋄]	64 a	82 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	30 b	50 b	70 b
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	30 c	40 c	60 cd
<i>Beauveria bassiana</i> + <i>Metarhizium anisopliae</i>	30 b	50 b	70 b
Testigo	0 c	0 c	0 d
Probabilidad	0.03	0.01	0.01

[⋄] Diferentes letras en la misma columna reflejan diferencias significativas ($P \leq 0.05$)

El tratamiento que presentó mejor porcentaje de disminución poblacional adulta de *C. sordidus* fue *Beauveria bassiana* con 82% seguido por *Metarhizium anisopliae* y la combinación *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* ambos con 70% de reducción en la población del picudo, en su mayoría los tratamientos ejercieron un buen control los cuales fueron superior al testigo, exceptuando el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* ($P < 0.05$) (Figura 4).

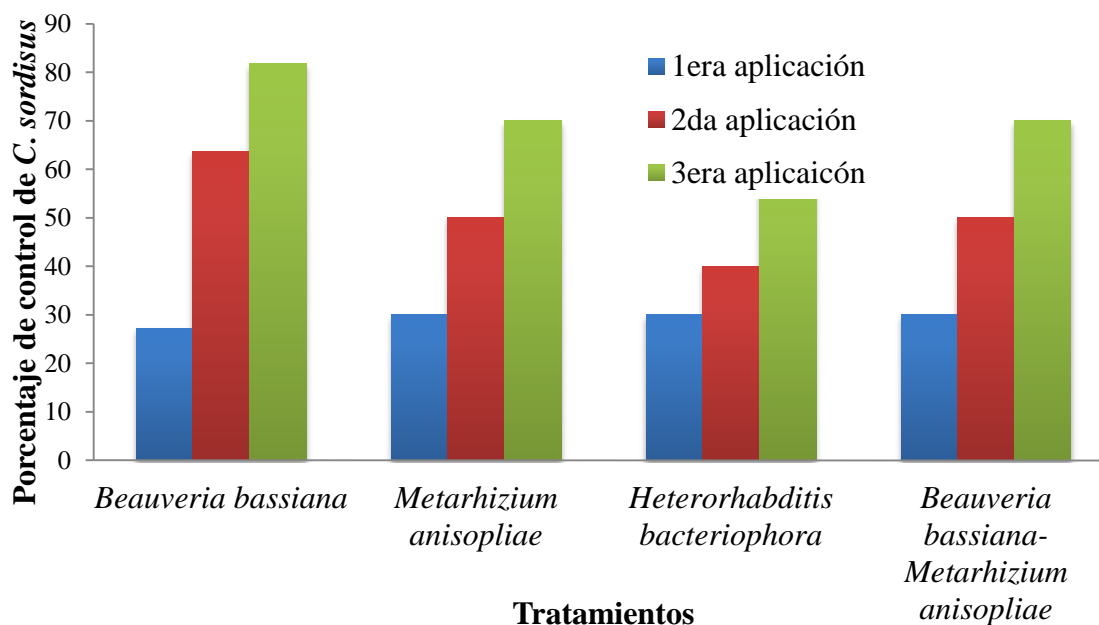


Figura 4. Control poblacional de *Cosmopolites sordidus* después de las aplicaciones, expresado en porcentaje.

Efectividad de los agentes biológicos durante el periodo de aplicación en cada tratamiento. Al inicio de las aplicaciones *Metarhizium anisopliae* y la combinación *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* tuvieron porcentajes de parasitismo de 30% y 33% respectivamente diferenciándose de *Beauveria bassiana* ($P < 0.05$) con 50%, en la segunda aplicación *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* y *Metarhizium anisopliae* por separado no diferían entre ellos con 40 y 42% pero si eran diferentes del tratamiento *Beauveria bassiana* el cual infectó 70% del total de insectos de ese tratamiento diferenciándose de todos los demás ($P < 0.05$).

Para la tercera aplicación *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*, mostraron un comportamiento similar teniendo un aumento en comparación a la segunda aplicación, respecto a *Heterorhabditis bacteriophora* se observó cierto grado de parasitismo pero fue casi nulo con 8% y con *Beauveria bassiana* se logró un mejor porcentaje (90%) (Cuadro 3) diferenciándose de todos los tratamientos con ($P < 0.05$).

Cuadro 3. Parasitismo causado por los agentes biológicos a *Cosmopolites sordidus* después de cada aplicación, expresada en porcentaje.

Tratamiento	1era	2da	3era
	aplicación	aplicación	aplicación
	%		
<i>Beauveria bassiana</i>	50 a [*]	70 a	90 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	30 b	40 b	55 b
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	0 c	0 c	8 cd
<i>Beauveria bassiana</i> + <i>Metarhizium anisopliae</i>	33 b	42 b	64 b
Testigo	0 c	0 c	0 d
Probabilidad	0.003	0.001	0.001

^{*} Diferentes letras en la misma columna reflejan diferencias significativas ($P \leq 0.05$)

Los resultados encontrados respecto a la última aplicación indican que el agente biológico con mejor efectividad para el control de *C. sordidus* es *Beauveria bassiana* ($P < 0.05$), parasitando 90% del total de insectos colectados en ese tratamiento.

La densidad poblacional del picudo del plátano disminuyó en mayor grado el tratamiento de *Beauveria bassiana* y el proceso de parasitismo respecto a las tres aplicaciones fue más significativo en comparación a los demás tratamientos, los resultados encontrados en este estudio difieren de los resultados encontrados por Ubilla (2007) quien menciona que *Beauveria bassiana* no presenta ningún efecto en el control de *C. sordidus*. Esto atribuyéndose a que en ese estudio las temperaturas sobrepasaron los 25 °C, afectando el mecanismo de acción del hongo entomopatógeno sobre el insecto y para este estudio se

mantuvo un rango de temperaturas de 20 a 25 °C, beneficiando el desarrollo del hongo en cuanto a su modo de acción.

En el tratamiento *Heterorhabditis bacteriophora* no se encontró efecto alguno en cuanto a parasitismo en el insecto, lo que concuerda con los resultados obtenidos de Amador et al (2015) y Carvajal (2009) quienes mencionan que *Heterorhabditis bacteriophora* no presenta efectos sobre *C. sordidus* adulto, debido a la dificultad que presenta el nematodo al momento de atacar a *Cosmopolites sordidus*, puesto que este insecto posee boca y ano bastante cerrado y un exoesqueleto bien compacto.

4. CONCLUSIONES

- El agente biológico más efectivo para el control poblacional de *Cosmopolites sordidus* respecto a los utilizados en el estudio fue *Beauveria bassiana*, los tratamientos *Metarhizium anisopliae* y la combinación de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* controlaron la población de *Cosmopolites sordidus* en menor efectividad que *Beauveria bassiana* pero superior al testigo.
- El porcentaje de control en la densidad poblacional fue de 82% con el uso de *Beauveria bassiana*, siendo *Heterorhabditis bacteriophora* el tratamiento que no fue efectivo para el control de *Cosmopolites sordidus* adulto.

5. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de *Beauveria bassiana* para el control de *Cosmopolites sordidus* adulto realizando aplicaciones al suelo.
- Realizar las aplicaciones cuando las poblaciones sobrepasen el nivel crítico de 10 insectos/trampa.
- Realizar aplicaciones con un intervalo de tiempo de 20 días entre cada aplicación.

6. LITERATURA CITADA

- Amador M, Guillen C, Parajeles E, Jiménez K, Uribe L. 2015. Utilización del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis atacamensis* CIA-NE07 en el control del picudo del banano *Cosmopolites sordidus* en condiciones in vitro. [Tesis]. Universidad de Costa Rica- Costa Rica. 48 p.
- Bermúdez JP. 2006. Generalidades de los hongos entomopatógenos. Evaluación de *Beauveria bassiana* Vuill y *Metarhizium anisopliae* Sorok en el Combate de *Imatidium neivai* Bondar en Palma Africana, Ecuador, INIAP. 15, 16 p.
- Blandón AC. 2007. Prácticas Alternativas para el Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. PROMIPAC, Zamorano, COSUDE. Honduras, 56p.
- Carvajal OA. 2009. Control del picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleóptera, Curculionidae) por el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae). [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 1 p.
- Castillo ZS. 2006. Uso de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico del salivazo (*Aeneolamia spp.* y *Prosapia spp.*) en pastizales de *Brachiaria decumbens* en El Petén, Guatemala. [Tesis]. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 78p.
- Gold CS, Messiaen S. 2000. El Picudo Negro del banano *Cosmopolites sordidus*. Montpellier Cedex 5, Francia, Inibap. 2,3 p. Hoja divulgativa # 4.
- Jacas JA. 2005. El control biológico de plagas y enfermedades, Selección de Especies, España, Publicaciones de la Universitat Jaume I, Vol. 5, 96,97 p.
- Lara MJ, Padilla AC, Fernández CC, Carnero AH. 2005. El picudo negro del plátano, Fruticultura profesional 150: 43-51 p.
- Ubilla PF. 2007. Control de Picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) con barrera de polietileno y Bazam (*Beauveria bassiana*) en plátano para condiciones de Zamorano, [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 5 p.